

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_密级\_\_\_\_

学号: 21720091152110

UDC\_\_\_\_

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

**TNF 诱导的细胞死亡: RIP3 和 RIP1  
依赖及非依赖的信号通路**

**TNF-Induced Cell Death: RIP3- and RIP1-  
Dependent and Independent Signaling Pathways**

赵 静

指导教师姓名: 韩家淮 (教授)

专 业 名 称 : 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2012 年 05 月

论文答辩时间: 2012 年 06 月

学位授予日期: 2012 年 07 月

答辩委员会主席: 李勤喜 (教授)

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2012 年 05 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(韩家淮)课题组的研究成果,获得(韩家淮)课题组经费和实验室的资助,在(韩家淮)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 赵静

2012 年 6 月 2 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（     ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年    月    日解密，解密后适用上述授权。

（   √  ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：赵静

2012年6月2日

## 摘要

肿瘤坏死因子 (TNF) 能够诱导不同的细胞走向凋亡或者坏死, 因此常被用来作为研究细胞死亡信号通路的模型。受体相互作用蛋白 1 (RIP1) 是已知的同时在细胞凋亡和坏死信号传递过程中都有重要作用的蛋白分子, 作为 RIP1 同家族的 RIP3 并不影响 TNF 诱导的细胞凋亡, 但是最近被报道是细胞程序性坏死所必需的蛋白激酶。

尽管在研究不同类型细胞的死亡方式时传统的细胞死亡分类方式很有用, 但是很明显在细胞进行凋亡或坏死时存在不只一种信号转导通路。为了获得更全面的 TNF 诱导细胞死亡的信号通路图, 我们利用是否依赖 caspase 来区分细胞凋亡与细胞程序性坏死, 在不同的成纤维细胞中用 TNF 诱导细胞死亡, 并鉴定是否需要 RIP1 或者 RIP3。我们发现尽管 RIP1 和 RIP3 都参与 TNF 诱导的成纤维细胞的死亡过程, 但 RIP1 和 RIP3 在不同的原代或永生化的成纤维细胞中的作用却不完全一致。除了存在 RIP1 依赖的细胞凋亡和 RIP3 依赖的细胞程序性坏死, RIP1 非依赖的细胞凋亡和 RIP3 非依赖的细胞程序性坏死同样存在。RIP1 非依赖的细胞凋亡是永生化的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 死亡的主要形式, 而 RIP1 和 RIP3 非依赖的细胞坏死也能在许多不同的细胞中被检测到。另外, 尽管细胞自吞噬 (autophagy) 已被报道与细胞坏死密切相关, 但我们发现细胞自吞噬不是 TNF 诱导的细胞坏死所必需。因此, TNF 能通过传递不同的信号通路导致细胞凋亡或者坏死, 而在不同的细胞中占主导地位的细胞死亡途径明显不同。

本论文发现了 RIP3 和 RIP1 非依赖的细胞程序性死亡, 阐明了在 TNF 诱导的不同成纤维细胞的死亡方式中 RIP1 和 RIP3 依赖及非依赖的信号通路, 对目前已知的细胞死亡信号转导通路进行了补充, 并为进一步揭示细胞凋亡和程序性坏死的详细分子机制提供了参考。

**关键词:** 受体相互作用蛋白 1; 受体相互作用蛋白 3; 细胞凋亡; 细胞程序性坏死

## Abstract

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF) can trigger apoptosis or necrosis in different cells, therefore is widely used to study the signaling pathways of cell death. While receptor-interacting protein 1 (RIP1) participates in both apoptosis and necrosis, our recent studies have shown that RIP3 is essential for TNF-induced necroptosis but has no role in TNF-induced apoptosis.

Although the traditional classification of cell death is very useful in understanding and studying different types of cell death, it is clear now that both apoptosis and necrosis are executed by more than one single mechanism. To obtain an overall picture of the pathways that mediate TNF-induced cell death signaling, we need to know the caspase dependence of the cell death occurring in these cell lines under different conditions, and the dependence of RIP1 and/or RIP3 in these cell death pathways. Here we show that although RIP1 and RIP3 participate in TNF-induced cell death of fibroblasts, the role of RIP1 and RIP3 in different primary or immortalized fibroblasts is not identical. In addition to RIP1-dependent apoptosis and RIP3-dependent necroptosis, RIP1-independent apoptosis and RIP3-independent necroptosis can also be observed. RIP1-independent apoptosis is a predominant death pathway in an immortalized MEF line, and RIP1- and RIP3-independent necroptosis can be detected in a number of cell lines. Although autophagy has been found to be associated with necroptosis, we determined that it is not required for TNF-induced necroptotic cell death. Thus, TNF can signal multiple pathways to induce apoptosis or necroptosis, and the predominant death pathway in different cells can be significantly diverse.

We have revealed that TNF-induced RIP3- and RIP1-dependent and independent cell death pathways in different types of fibroblasts. Our research has shed new light on the current understanding about TNF-induced cell death and helped to further reveal the details of molecular mechanisms of apoptosis and necroptosis.

**Keywords:** RIP1; RIP3; apoptosis; necroptosis

# 目 录

中文摘要 .....	I
英文摘要 .....	II
第一章 绪论 .....	1
1.1 细胞凋亡和细胞坏死.....	1
1.1.1 细胞凋亡和细胞坏死的介绍.....	1
1.1.1.1 细胞凋亡.....	1
1.1.1.2 细胞坏死.....	1
1.1.2 细胞凋亡和细胞坏死的机制.....	2
1.1.2.1 细胞凋亡的机制.....	2
1.1.2.2 程序性坏死 (necroptosis) 的机制.....	2
1.1.3 细胞凋亡与细胞坏死之间的联系.....	3
1.1.4 zVAD 和细胞死亡 .....	4
1.2 肿瘤坏死因子 (TNF).....	5
1.2.1 TNF 简介 .....	5
1.5.2 TNF 能诱导细胞凋亡和细胞坏死 .....	5
1.3 受体相互作用蛋白 (RIP).....	6
1.3.1 RIP 家族简介 .....	6
1.3.2 RIP 家族的结构特点 .....	7
1.3.3 RIP 家族成员介绍 .....	8
1.3.3.1 RIP1 .....	8
1.3.3.1.1 RIP1 简介 .....	8
1.3.3.1.2 RIP1 介导 TNF 诱导的 NF- $\kappa$ B 激活 .....	8
1.3.3.1.3 RIP1 参与 TRIF 信号通路中的 NF- $\kappa$ B 激活 .....	9
1.3.3.1.4 RIP1 活性的反馈调节 .....	10
1.3.3.1.5 RIP1 介导细胞死亡 .....	11
1.3.3.1.6 RIP1 的选择：存活或死亡 .....	11

1.3.3.2 RIP2 .....	12
1.3.3.2.1 RIP2 简介 .....	12
1.3.3.2.2 RIP2 在先天免疫反应中的作用 .....	13
1.3.3.2.3 RIP2 在适应性免疫反应中的作用 .....	14
1.3.3.3 RIP3 .....	14
1.3.3.3.1 RIP3 简介 .....	14
1.3.3.3.2 RIP3 在细胞内的定位 .....	15
1.3.3.3.3 RIP3 的两个剪切异构体: RIP3 $\beta$ 和 RIP3 $\gamma$ .....	16
1.3.3.3.4 RIP3 抑制 NF- $\kappa$ B 的激活.....	16
1.3.3.3.5 过量表达 RIP3 诱导 NF- $\kappa$ B 的激活.....	17
1.3.3.3.6 RIP3 与细胞凋亡 .....	18
1.3.3.3.7 RIP3 与细胞程序性死亡 .....	19
1.3.3.4 RIP4 .....	21
1.3.3.5 RIP 家族的其他成员 .....	22
<b>1.4 立题背景 .....</b>	<b>22</b>
<b>第二章 材料和方法 .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 实验相关药品和试剂 .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 实验室主要仪器.....</b>	<b>25</b>
<b>2.3 DNA 相关实验和方法.....</b>	<b>25</b>
2.3.1 质粒载体.....	25
2.3.1.1 普通真核表达载体.....	25
2.3.1.2 慢病毒载体.....	26
2.3.1.3 RNA 干扰载体 .....	26
2.3.2 大肠杆菌感受态细胞的制备和质粒转化.....	29
2.3.2.1 感受态细胞的制备.....	29
2.3.2.2 质粒转化感受态细胞.....	29
2.3.3 质粒 DNA 的提取 .....	30
2.3.3.1 小量提取质粒 DNA (STET 煮沸法).....	30
2.3.3.2 中量提取质粒 DNA (碱裂解法) .....	30
2.3.3.3 大量提取质粒 DNA (CsCl 密度梯度离心法) .....	31

2.3.4 质粒 DNA 的工具酶处理 .....	32
2.3.4.1 DNA 的限制性内切酶消化 .....	32
2.3.4.2 双链 DNA 5'突出末端平滑化 .....	32
2.3.4.3 线性 DNA 5'末端磷酸化 .....	33
2.3.4.4 线性 DNA 5'末端磷酸基团的移除 .....	33
2.3.5 DNA 的回收和纯化 .....	33
2.3.5.1 DNA 琼脂糖凝胶电泳 .....	33
2.3.5.2 从琼脂糖凝胶中回收 DNA .....	34
2.3.5.3 从溶液中回收 DNA .....	34
2.3.6 DNA 连接反应 .....	35
2.3.7 PCR 相关实验 .....	35
2.3.7.1 普通 PCR 反应 .....	35
2.3.7.2 PCR 产物的克隆 .....	35
2.3.8 质粒载体的构建 .....	36
2.3.8.1 RIP1 慢病毒表达载体的构建 .....	36
2.3.8.2 shRNA 表达载体的构建 .....	36
<b>2.4 细胞相关实验和方法 .....</b>	<b>36</b>
2.4.1 细胞培养 .....	36
2.4.1.1 细胞培养基及相关溶液配制 .....	36
2.4.1.2 细胞的培养和传代 .....	37
2.4.2 细胞转染 .....	37
2.4.2.1 磷酸钙转染法 .....	37
2.4.2.2 脂质体 2000 转染法 .....	38
2.4.3 稳定表达细胞株的筛选 .....	39
2.4.4 慢病毒包装与感染 .....	39
2.4.4.1 慢病毒的包装 .....	39
2.4.4.2 慢病毒感染目的细胞 .....	40
2.4.5 利用流式细胞仪检测细胞存活 .....	40
2.4.6 MEF 细胞的制作 .....	41
<b>2.5 蛋白质相关实验和方法 .....</b>	<b>42</b>



2.5.1 免疫共沉淀.....	42
2.5.2 免疫印迹.....	42
2.5.3 相关溶液配制.....	43
<b>第三章 结果与分析 .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1 RIP3 依赖的细胞程序性坏死.....</b>	<b>45</b>
3.1.1 TNF 诱导 RIP3 高表达的 NIH3T3-N 细胞发生 RIP3 依赖的程序性坏死..	45
3.1.2 TNF 诱导 L929 细胞进行 RIP3 依赖的程序性坏死.....	48
3.1.3 TNF 诱导原代小鼠胚胎成纤维细胞进行 RIP3 依赖的程序性坏死 .....	49
<b>3.2 RIP3 非依赖的细胞程序性坏死.....</b>	<b>50</b>
<b>3.3 RIP1 非依赖的细胞死亡.....</b>	<b>51</b>
3.3.1 RIP1 在细胞凋亡中的重要作用 .....	51
3.3.2 RIP1 非必需的细胞凋亡 .....	51
3.3.3 RIP1 非依赖的细胞程序性坏死 .....	52
<b>3.4 自噬 (Autophagy) 和细胞程序性坏死的关系.....</b>	<b>54</b>
3.4.1 3-MA、WM 和 rapamycin 不影响 TNF 诱导的细胞程序性坏死.....	54
3.4.2 敲低 PI3K 不影响 TNF 诱导的细胞程序性坏死 .....	56
<b>3.5 总结与讨论 .....</b>	<b>58</b>
<b>附录 1 图表索引.....</b>	<b>59</b>
<b>附录 2 缩略语及中英文对照 .....</b>	<b>60</b>
<b>参考文献 .....</b>	<b>67</b>
<b>致 谢 .....</b>	<b>79</b>

## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese .....</b>	<b>I</b>
<b>Abstract in English .....</b>	<b>II</b>
<b>Chapter 1 Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Apoptosis and necrosis .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Introduction to apoptosis and necrosis.....	1
1.1.1.1 Apoptosis .....	1
1.1.1.2 Necrosis.....	1
1.1.2 Mechanism of apoptosis and necrosis.....	2
1.1.2.1 Mechanism of apoptosis .....	2
1.1.2.2 Mechanism of necropotsis .....	2
1.1.3 Relationship between apoptosis and necrosis.....	3
1.1.4 zVAD and cell death.....	4
<b>1.2 Tumor necrosis factor (TNF).....</b>	<b>5</b>
1.2.1 Introduction of TNF .....	5
1.5.2 TNF can induce apoptosis and necrosis.....	5
<b>1.3 Receptor-interacting protein (RIP).....</b>	<b>6</b>
1.3.1 Introduction of RIPs.....	6
1.3.2 Structural features of RIPs .....	7
1.3.3 RIP family members .....	8
1.3.3.1 RIP1 .....	8
1.3.3.1.1 Introduction of RIP1 .....	8
1.3.3.1.2 RIP1 mediates TNF-induced NF- $\kappa$ B activation.....	8
1.3.3.1.3 RIP1 is involved in NF- $\kappa$ B activation in TRIF pathway .....	9
1.3.3.1.4 Negative feedback regulation of RIP1 activity.....	10
1.3.3.1.5 RIP1 induces cell death.....	11
1.3.3.1.6 RIP1's choice: survival or death .....	11
1.3.3.2 RIP2 .....	12

1.3.3.2.1 Introduction of RIP2 .....	12
1.3.3.2.2 Role of RIP2 in the innate immune system .....	13
1.3.3.2.3 Role of RIP2 in the adaptive immune responses .....	14
1.3.3.3 RIP3 .....	14
1.3.3.3.1 Introduction of RIP3 .....	14
1.3.3.3.2 Subcellular location of RIP3 .....	15
1.3.3.3.3 Two splice variants of RIP3: RIP3 $\beta$ and RIP3 $\gamma$ .....	16
1.3.3.3.4 RIP3 inhibits the activation of NF- $\kappa$ B .....	16
1.3.3.3.5 Overexpression of RIP3 activates NF- $\kappa$ B .....	17
1.3.3.3.6 RIP3 and apoptosis .....	18
1.3.3.3.7 RIP3 and necroptosis .....	19
1.3.3.4 RIP4 .....	21
1.3.3.5 Other RIP family members .....	22
<b>1.4 Background of this thesis .....</b>	<b>22</b>
<b>Chapter 2 Materials and methods .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 Drugs and reagents .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 Instruments .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3 Experiments and methods for DNA .....</b>	<b>25</b>
2.3.1 Plasmid vector .....	25
2.3.1.1 General eukaryotic expression vector .....	25
2.3.1.2 Lentiviral vectors .....	26
2.3.1.3 RNAi vector .....	26
2.3.2 Preparation of competent cells and transformation .....	29
2.3.2.1 Preparation of competent cells .....	29
2.3.2.2 Transformation of DNA into competent cells .....	29
2.3.3 Preparation of plasmid DNA .....	30
2.3.3.1 Mini-prep of plasmid DNA by boiling .....	30
2.3.3.2 Midi-prep of plasmid DNA by alkaline lysis .....	30
2.3.3.3 Maxi-prep of plasmid DNA by CsCl gradient centrifugation .....	31
2.3.4 Enzymatic treatments of plasmid DNA .....	32
2.3.4.1 Digestion of plasmid DNA with restriction enzymes .....	32
2.3.4.2 Making blunt ends from 5' overhangs of double-strand DNA .....	32

2.3.4.3 Addition of 5' phosphates to the linearized DNA .....	33
2.3.4.4 Removal of 5' phosphoryl group from the linearized DNA .....	33
2.3.5 Recovery and purification of DNA.....	33
2.3.5.1 Agarose gel electrophoresis .....	33
2.3.5.2 Recovery of DNA from agarose gel .....	34
2.3.5.3 Recovery of DNA from solution.....	34
2.3.6 Ligation .....	35
2.3.7 PCR experiments .....	35
2.3.7.1 General PCR .....	35
2.3.7.2 Cloning of PCR product.....	35
2.3.8 Construction of plasmid vector.....	36
2.3.9 Construction of lentiviral expression vector of RIP1 .....	36
2.3.10 shRNA oligo design.....	36
<b>2.4 Experiments and methods for cells .....</b>	<b>36</b>
2.4.1 Cell culture.....	36
2.4.1.1 Media and solutions for cell culture.....	36
2.4.1.2 Cell culture and passage.....	37
2.4.2 Transfection .....	37
2.4.2.1 Calcium phosphate transfection.....	37
2.4.2.2 Lipofectamine 2000 transfection .....	38
2.4.3 Selection of stable cell lines.....	39
2.4.4 Lentivirus packaging and infection.....	39
2.4.4.1 Lentivirus packaging.....	39
2.4.4.2 Infection .....	40
2.4.5 Cell death assay through FCM.....	40
2.4.6 Make MEF cells.....	41
<b>2.5 Experiments and methods for protein .....</b>	<b>42</b>
2.5.1 Co-immunoprecipitation.....	42
2.5.2 Western blot.....	42
2.5.3 Preparation of solutions .....	43
<b>Chapter 3 Results and analysis .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1 RIP3-dependent necroptosis in several fibroblasts.....</b>	<b>45</b>

3.1.1 TNF induces RIP3-dependent necroptosis in NIH3T3-N cell lines .....	45
3.1.2 TNF induces RIP3-dependent necroptosis in L929 cells.....	48
3.1.3 TNF induces RIP3-dependent necroptosis in primary MEFs .....	49
<b>3.2 RIP3-independent necroptosis.....</b>	<b>50</b>
<b>3.3 RIP1-independent cell death.....</b>	<b>51</b>
3.3.1 RIP1 plays a critical role in TNF-induced apoptosis .....	51
3.3.2 RIP1-independent apoptosis .....	51
3.3.3 RIP1-independent necroptosis .....	52
<b>3.4 Autophagy and necroptosis.....</b>	<b>54</b>
3.4.1 3-MA, WMorrapamycin has no effect on TNF-induced necroptosis .....	54
3.4.2 Knockdown of PI3K does not influence TNF-induced necroptosis .....	56
<b>3.5 Conclusions.....</b>	<b>58</b>
<b>Appendix 1 Index of figures and tables.....</b>	<b>59</b>
<b>Appendix 2 Abbreviations .....</b>	<b>60</b>
<b>References .....</b>	<b>67</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>67</b>

## 第一章 绪论

### 1.1 细胞凋亡和细胞坏死

#### 1.1.1 细胞凋亡和细胞坏死的介绍

##### 1.1.1.1 细胞凋亡

细胞凋亡是指细胞在一定条件下，受内在基因调控的，程序性的主动死亡过程。细胞凋亡对生物体组织内正常细胞群的稳定、胚胎的发育、形态发生、机体的免疫及防御反应、疾病或中毒引起的细胞损伤或老化、肿瘤的发生与发展等都有着非常重要的作用。凋亡细胞的主要特征有：(1) 细胞质皱缩，体积变小；(2) 染色质凝集，细胞核固缩；(3) 核酸内切酶被活化，染色质 DNA 被切割成核小体大小(约 180 bp) 整数倍大小的核酸片段，凝胶电泳图谱呈梯状，即核酸片段化；(4) 细胞出芽形成大小不等的由胞膜包裹的凋亡小体；(5) 凋亡小体可被具有吞噬功能的细胞吞噬消化；(6) 在细胞凋亡过程中细胞膜完整，没有出现细胞内容物释放，不引起炎症反应。

##### 1.1.1.2 细胞坏死

研究表明，还有一些细胞死亡是 caspase 非依赖性的，即细胞坏死。

早期科学界认为细胞坏死是一类由化学因素(例如强酸、强碱、有毒物质等)、物理因素(例如高温、辐射等)或生物因素(例如缺氧、病原体感染等)等环境因素引起的细胞死亡现象，属于被动性细胞死亡。细胞坏死在炎症反应等病理和生理过程中发挥着重要作用。坏死细胞的主要特征有：(1) 细胞质以及溶酶体、线粒体、内质网等细胞器肿胀崩解；(2) 细胞空泡化；(3) 嗜碱性核蛋白的降解，细胞质呈现强嗜酸性，细胞微细结构消失；(4) 细胞核固缩或断裂，染色质 DNA 降解；(5) 细胞膜通透性增加，细胞内水泡不断增大，细胞结构完全消失，细胞肿胀破裂；(6) 因细胞内容物流出，可引起炎症反应。

早期只把细胞坏死定义为一种被动的、偶然性的细胞死亡，而且认为细胞坏死

是不能被调控的，无规律的死亡过程。对细胞程序性坏死 (necroptosis) 的发现开始于对死亡受体 Fas(CD95)<sup>[1]</sup>引起的人 T 淋巴细胞的坏死及 TNF<sup>[2]</sup>诱导的小鼠胚胎层纤维细胞的坏死需要 RIP1 的发现。RIP1 的同源家族蛋白 RIP3 则是介导 caspase 非依赖细胞死亡的关键蛋白<sup>[3-5]</sup>。因此程序化坏死 (necroptosis) 可能是和细胞凋亡同等重要的信号通路。

## 1.1.2 细胞凋亡和细胞坏死的机制

### 1.1.2.1 细胞凋亡的机制

目前，研究最多的细胞凋亡信号主要是由死亡受体 (death receptor) 启动并介导。死亡受体能够募集死亡效应物 (death effector)，后者能够激活天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶-8 (caspase-8) 的自激活。活化后的 caspase-8 可以通过两种途径来执行促进细胞凋亡的功能：(1) 线粒体依赖型途径，即 caspase-8 激活线粒体上 Bcl-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2) 家族的促凋亡蛋白，如 Bak (Bcl-2 homologous antagonist / killer) 和 Bax (Bcl-2 associated X protein)，导致线粒体膜电势的丧失以及膜通透性的增加，从而释放大量的细胞色素 c (cytochrome c) 到胞质中，细胞色素 c 随后与凋亡酶激活因子-1 (apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1) 等形成凋亡复合体，后者进而激活 caspase-9，并最终导致凋亡效应物 caspase-3 的活化，引起细胞凋亡；(2) 线粒体非依赖型途径，即活化的 caspase-8 直接激活下游的 caspase 家族分子，引发 caspase 的级联簇反应，直至信号传递至效应蛋白 caspase-3，最后导致细胞凋亡<sup>[6]</sup>。

这种经典的细胞凋亡途径都需要 caspase 蛋白的参与。

### 1.1.2.2 程序性坏死 (necroptosis) 的机制

目前，对于程序性死亡机理的研究大多来自于对TNF诱导的细胞死亡系统的研究 (图1.1)。在和配体结合后，肿瘤坏死因子受体1 (TNFR1) 在细胞质的部分将会募集多种蛋白形成叫做复合体1的信号转导复合体 (图1.1)。复合体1作为一个平台，招募下游激酶和效应因子以激活转录因子NF- $\kappa$ B和有丝分裂原活化蛋白激酶 MAPK<sup>[7,8]</sup>。NF- $\kappa$ B由于能够介导一些保护细胞的蛋白表达因而被认为是能够启动生存信号通路的<sup>[9]</sup>。受体配体结合后，通过胞吞作用TNFR1进入细胞质，进而形成复

合体2 (complexII)，也称作细胞质死亡诱导信号复合体DISC (图1.1)。这个复合体包括泛素化的RIP1，caspase-8和衔接分子TRADD和FADD29。

在TNF诱导的细胞程序性坏死中，坏死信号复合体的概念被提了出来。这时一个类似于凋亡信号通路中的多蛋白复合体DISC的复合体，只是在此复合体上结合了RIP3。由于此信号通路中也有FADD和caspase-8，因此和DISC会有很强的竞争作用。所以有些研究人员称作此复合体为complexIIb，而大多数人将其命名为坏死小体 (necrosome) 介导细胞程序化坏死。在坏死小体中的Caspase-8能够通过直接剪接RIP1和RIP3来抑制两个激酶的活性，因此抑制或敲除Caspase-8能够促进细胞程序性死亡<sup>[11-15]</sup> (图1.1)。坏死小体通过激活多种蛋白及信号通路，调节细胞能量代谢，最终导致细胞坏死。

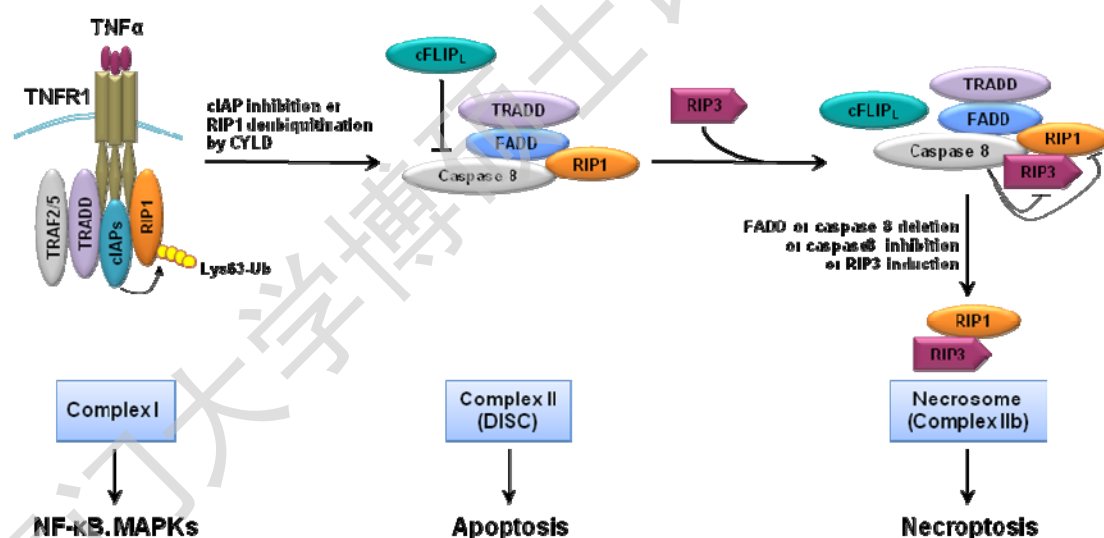


图 1.1 TNF 引发的细胞内信号通路

Fig. 1.1 Cellular signaling pathways triggered by TNF

### 1.1.3 细胞凋亡与细胞坏死之间的联系

实验证明，caspase依赖的细胞凋亡与caspase非依赖的细胞坏死之间存在着相互联系。在某些细胞中，当caspase的活性被抑制后，细胞能够从凋亡转变为一种caspase非依赖的细胞死亡。比如糖皮质激素 (glucocorticoids) 诱导的胸腺细胞



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库